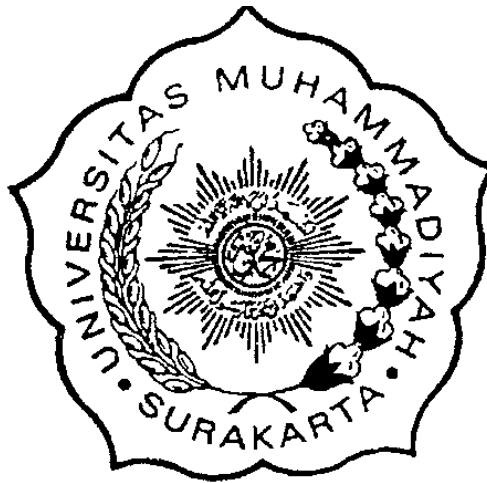


**UJI SITOTOKSIK EKSTRAK ETANOL DAN METANOL ALGA *Spirulina platensis* TERHADAP SEL KANKER PAYUDARA T47D**



**Disusun sebagai salah satu syarat menyelesaikan Program Studi Strata I pada  
Jurusan Farmasi Fakultas Farmasi**

**Oleh:**

**YANUAR AS'HARI CAHYANINGRUM**

**K 100 150 107**

**PROGRAM STUDI FARMASI  
FAKULTAS FARMASI  
UNIVERSITAS MUHAMMADIYAH SURAKARTA  
2019**

**HALAMAN PERSETUJUAN**

**UJI SITOTOKSIK EKSTRAK ETANOL DAN METANOL ALGA *Spirulina platensis* TERHADAP SEL KANKER PAYUDARA T47D**

**PUBLIKASI ILMIAH**

oleh:

**YANUAR AS'HARI CAHYANINGRUM**

**K 100 150 107**

Telah diperiksa dan disetujui untuk diuji oleh:

Dosen Pembimbing



**Maryati, Ph.D., Apt**

**NIK.871**

## HALAMAN PENGESAHAN

# UJI SITOTOKSIK EKSTRAK ETANOL DAN METANOL ALGA *Spirulina platensis* TERHADAP SEL KANKER PAYUDARA T47D

OLEH

YANUAR AS'HARI CAHYANINGRUM

K 100 150 107

Telah dipertahankan di depan Dewan Penguji  
Fakultas Farmasi  
Universitas Muhammadiyah Surakarta  
Pada hari Selasa, 22 Januari 2019  
dan dinyatakan telah memenuhi syarat

Dewan Penguji:

1. Azis Saifudin, Ph.D., Apt  
(Ketua Dewan Penguji)
2. Gunawan Setiyadi, M.Sc., Apt  
(Anggota I Dewan Penguji)
3. Maryati, Ph.D., Apt  
(Anggota II Dewan Penguji)

(.....)  
(.....)  
(.....)



Azis Saifudin, Ph.D., Apt

NIK. 956

## PERNYATAAN

Dengan ini saya menyatakan bahwa dalam naskah publikasi ini tidak terdapat karya yang pernah diajukan untuk memperoleh gelar kesarjanaan di suatu perguruan tinggi dan sepanjang pengetahuan saya juga tidak terdapat karya atau pendapat yang pernah ditulis atau diterbitkan orang lain, kecuali secara tertulis diacu dalam naskah dan disebutkan dalam daftar pustaka.

Apabila kelak terbukti ada ketidakbenaran dalam pernyataan saya di atas, maka akan saya pertanggungjawabkan sepenuhnya.

Surakarta, 21 Januari 2019

Pentulis



YANUAR AS'HARI CAHYANINGRUM

K 100 150 107

## UJI SITOTOKSIK EKSTRAK ETANOL DAN METANOL ALGA *Spirulina platensis* TERHADAP SEL KANKER PAYUDARA T47D

### Abstrak

Saat ini kanker payudara menjadi salah satu penyakit yang menyebabkan kematian terbesar di dunia. Banyak peneliti ingin menemukan terapi alternatif menggunakan bahan alami. *Spirulina platensis* merupakan alga biru-hijau yang kaya akan kandungan senyawa antioksidan yang tinggi. Penelitian ini bertujuan untuk mengetahui efek sitotoksik pada ekstrak etanol dan metanol *Spirulina platensis* terhadap sel kanker payudara T47D. Ekstraksi sampel menggunakan metode maserasi dengan pelarut etanol dan metanol. Uji sitotoksik pada penelitian ini menggunakan metode MTT. Kadar yang digunakan untuk uji sitotoksik yaitu 31,25; 62,5; 125 ; 250 dan 500 µg/mL. Kemudian hasil dibaca dengan ELISA reader pada 550 nm. Hasil rata-rata % sel hidup ekstrak etanol pada konsentrasi 500µg/mL sebesar 67,280 % sedangkan ekstrak metanol sebesar 54.405 %. Dari hasil rata-rata % sel hidup yang diperoleh masih tinggi, sehingga tidak bisa dihitung nilai IC<sub>50</sub>. Dari hasil tersebut dapat disimpulkan bahwa ekstrak etanol dan metanol memiliki aktivitas sitotoksik yang lemah terhadap sel T47D. Uji kandungan senyawa ekstrak *Spirulina platensis* menggunakan KLT dengan fase gerak etilasetat : n-heksan dengan perbandingan (7:3) dengan hasil menunjukkan bahwa ekstrak etanol spirulina mengandung senyawa β-karoten, klorofil α, flavonoid dan triterpenoid (steroid).

**Kata Kunci:** *Spirulina platensis*, sitotoksik, sel T47D, MTT.

### Abstract

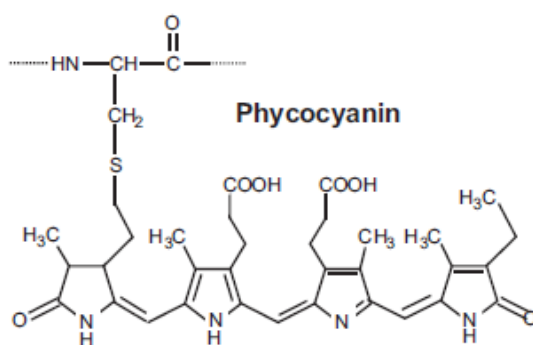
Nowadays breast cancer is one of the diseases that cause the biggest death in the world. Many researchers want to find alternative therapies using natural ingredients. *Spirulina platensis* is a blue-green algae that is rich in high antioxidant compounds. This study aims to determine the cytotoxic effects of ethanol and methanol extract of *Spirulina platensis* on T47D breast cancer cells. Sample extraction using maceration method with ethanol and methanol solvents. Cytotoxic tests in this study used the MTT method. The levels used for the cytotoxic test are 31.25; 62.5; 125; 250 and 500 µg / mL. Then the results are read by an ELISA reader at 550 nm. The average yield of % of living cells of ethanol extract at a concentration of 500 µg / mL was 67.280% while the methanol extract was 54.405%. From the results of the average % of living cells obtained is still high, so IC<sub>50</sub> values cannot be calculated. From these results it can be concluded that ethanol and methanol extracts have weak cytotoxic activity against T47D cells. The content of *Spirulina platensis* extract using TLC with the mobile phase of ethylacetate: n-hexan by comparison (7: 3) with the results showed that spirulina ethanol extract contained β-carotene compounds, chlorophyll α, flavonoids and triterpenoids (steroids).

**Keywords:** *Spirulina platensis*, cytotoxic, T47D cell, MTT.

## 1. PENDAHULUAN

Kanker merupakan salah satu penyebab kematian terbesar di dunia. Di antara semua jenis kanker, kanker payudara adalah kanker yang paling umum didiagnosis pada wanita dan penyebab utama kematian akibat kanker pada wanita di seluruh dunia (Moein *et al.*, 2015). Berdasarkan data rekapitulasi deteksi dini pemeriksaan tahun 2007-2016, angka penduduk Indonesia yang terkena tumor payudara mencapai 4.030 orang dan yang dicurigai terkena kanker payudara mencapai 611 orang dengan total 1.925.943 jiwa penduduk Indonesia (Kemenkes RI, 2017). Pada umumnya terapi antikanker yang sering dilakukan yaitu dengan pembedahan, kemoterapi dan radioterapi yang bertujuan untuk mengendalikan pertumbuhan tumor (Qi *et al.*, 2015). Dengan cara tersebut masih menimbulkan efek samping dan terjadi resistensi sel kanker (Fitria *et al.*, 2011). Untuk mengatasi hal tersebut perlu dilakukan upaya untuk menemukan obat sebagai terapi alternatif.

Pengobatan dengan menggunakan bahan alami sudah menjadi terapi kemoterapi kanker dalam 30 tahun terakhir. Salah satunya alga *Spirulina platensis* yang mendapatkan perhatian para peneliti untuk meneliti sumber obat alami yang potensial. Salah satu komponen utama dalam *Spirulina platensis* yaitu C-PC (C-phycoerythrin) yang merupakan suatu pigmen protein kompleks yang berasal dari keluarga phycobiliprotein bersama dengan allophycocyanin dan phycoerythrin (Glazer, 1989). C-phycoerythrin merupakan pigmen aksesori untuk klorofil dan semua phycobiliprotein larut dalam air (Brient *et al.*, 2008). Kandungan fikosianin dalam *Spirulina platensis* sebesar 6,7-11,7% dari total protein sebesar 50-70% (Christwardana and Hadiyanto, 2013). Gambar 1 menunjukkan struktur kimia fikosianin. *Spirulina* juga terbukti sebagai antioksidan yang kuat terbukti dengan kandungan klorofil,  $\beta$ -karoten dan lutein (Smieszek *et al.*, 2017). Penelitian sebelumnya menunjukkan C-PC mempunyai aktivitas antioksidan, antimutagenik, antiviral, antikanker, antialergi, meningkatkan kekebalan, hepatoprotektif dan efek penurunan lipid darah (Li *et al.*, 2009).



Gambar 1. Struktur kimia fikosianin ( Zheng, 2011)

Penelitian lain menunjukkan fraksi protein dari *Spirulina platensis* yang berasal dari air laut di China yang mempunyai efek penghambatan proliferasi yang tinggi terhadap MCF-7, HepG-2 dan SGC-7901 dengan nilai IC<sub>50</sub> <31,25; 36,42; dan 48,25 µg/mL (Wang and Zhang, 2017). Selain itu pada penelitian yang lain juga ditemukan pengaruh filtrat *Spirulina platensis* pada sel kanker kolon Caco-2 pada konsentrasi 5% (v/v) dapat menghambat pertumbuhan sel Caco-2 dilihat dari luas permukaan sel dan jumlah koloni dilihat pada 24 jam dan 72 jam (Smieszek *et al.*, 2017). Pada penelitian ini akan dilakukan uji sitotoksik ekstrak etanol dan metanol *Spirulina platensis* terhadap sel kanker payudara T-47D.

## 2. METODE

### 2.1. Alat-alat

Alat yang digunakan untuk ekstraksi yaitu timbangan, bejana, batang pengaduk, corong *buchner*, rotary evaporator, waterbath. Alat yang digunakan dalam uji sitotoksik yaitu tangki nitrogen cair, mikroskop fase kontras (Olympus, Jepang), *Laminar Air Flow* (Nuair), sentrifus Sigma 3K12 (B. Braun Biotech Internasional), inkubator CO<sub>2</sub> (Nuair<sup>T</sup> M<sub>1</sub>IR autowflow), tabung konikal steril, mikroplate 96 sumuran (nunclone), hemisitometer (New Bauer), ELISA reader, tissue culture flask (nunclone), mikropipet (Socorex), vortex (Genie), timbangan elektrik (Sartorius). Alat untuk KLT yaitu gelas chamber, gelas ukur, pipa kapiler, kertas saring, plat silica gel GF<sub>254</sub> dan lampu UV.

### 2.2. Bahan

Bahan penelitian yang digunakan yaitu *Spirulina platensis* hasil budidaya air tawar dari PT. Neoalgae di daerah Gayam, Sukoharjo, Jawa Tengah. Bahan untuk ekstraksi menggunakan pelarut etanol 96% dan metanol. Bahan untuk uji sitotoksik menggunakan sel T47D dengan kepadatan sel 10<sup>4</sup> yang diperoleh dari laboratorium Kultur Sel Fakultas Farmasi Universitas Muhammadiyah Surakarta, media RPMI 1640 (Gibco), FBS 10%, fungisida 0,5%, penicillin-streptomisin 2%, aquadest, natrium bikarbonat, aquabidest, PBS (*Phosphate Buffer Saline*), larutan MTT (3-(4,5-dimetiltiazol-2-il), 2,5-difeniltetrazoliumbromide) dalam PBS 20%, SDS 10% (Sigma), HCl 0,1N, pelarut DMSO, dan aluminium foil. Bahan untuk uji KLT yaitu etil asetat, n-heksana, reagen semprot FeCl<sub>3</sub>, sitoborat, vanillin dan liberman.

### 2.3. Ekstraksi

Teknik ekstraksi banyak digunakan untuk isolasi senyawa bioaktif dari sumber alami (Pyne *et al.*, 2017). *Spirulina platensis* yang digunakan untuk penelitian ini berbentuk sampel yang sudah kering yang berasal dari daerah Gayam, Sukoharjo, Jawa Tengah. Serbuk spirulina yang sudah diremas-

remas masing-masing diekstraksi dengan metode maserasi menggunakan etanol 96% dan metanol didiamkan selama 3x24 jam dengan sesekali diaduk. Kemudian ekstrak disaring menggunakan corong *buchner*. Setelah disaring kemudian diuapkan dengan *rotary evaporator* agar ekstrak spirulina terpisah dengan pelarut.

## 2.4. Uji Sitotoksik

Sel T47D dimasukkan ke dalam plate dengan kepadatan  $10^4$ , setelah itu diinkubasi semalam kemudian diberi perlakuan ekstrak. Ekstrak etanol dan metanol spirulina masing-masing ditimbang 10 mg dan dilarutkan dalam 250  $\mu$ L pelarut DMSO, kemudian ditambahkan media kultur RPMI ad 1 mL. Dibuat larutan stok 10 mg/ mL kemudian dilakukan pengenceran, sehingga didapatkan konsentrasi 31,25; 62,5; 125; 250; dan 500  $\mu$ g/mL. Sampel dimasukkan ke dalam masing-masing sumuran sebanyak 100  $\mu$ L dengan 3 kali replikasi, lalu diinkubasi pada inkubator CO<sub>2</sub> selama 48 jam. Pada akhir inkubasi, media kultur yang mengandung sampel dibuang, kemudian ditambahkan 100  $\mu$ L larutan MTT ke dalam masing-masing sumuran dan diinkubasi selama 2 jam pada inkubator CO<sub>2</sub> dengan suhu 37°C. Sel yang hidup akan bereaksi dengan MTT membentuk kristal berwarna ungu setelah itu ditambahkan reagen stopper berupa SDS 10%. Semua proses harus dilakukan pada kondisi steril dan di dalam *Laminar Air Flow*. Hasil absorbansinya dibaca dengan *ELISA reader* pada panjang gelombang 550 nm. Presentase sel yang hidup dihitung berdasarkan data absorbansi kemudian dibuat kurva konsentrasi versus % nilai sel hidup dan dihitung harga IC<sub>50</sub> nya.

## 2.5. Analisis Data

Persentase sel hidup dihitung menggunakan data absorbansi sel dan dibuat kurva hubungan konsentrasi vs % sel hidup, kemudian dihitung harga IC<sub>50</sub> nya.

$$\% \text{ Sel hidup} = \frac{(\text{Absorbansi perlakuan} - \text{Absorbansi kontrol media})}{(\text{Absorbansi kontrol pelarut} - \text{Absorbansi kontrol media})} \times 100 \%$$

Nilai IC<sub>50</sub> dapat ditentukan dari persamaan regresi linear grafik hubungan konsentrasi vs nilai % hidup, nilai y dimasukkan 50% pada persamaan regresi linear ( $y = bx + a$ ), nilai x yang didapat merupakan nilai IC<sub>50</sub> (*Cancer Chemoprevention Research Center, 2013*).

## 2.6. Uji Kandungan Senyawa

Uji kandungan senyawa dilakukan dengan menggunakan metode kromatografi lapis tipis (KLT). Uji KLT dengan menggunakan fase gerak etil asetat : n-heksan dengan perbandingan 7:3. Senyawa yang sudah dielusi, kemudian disemprot dengan pereaksi, FeCl<sub>3</sub>, Sitoborat, Vanillin asam sulfat dan



Libermann Burchard untuk menampakkan bercak dan sebagai penegasan kandungan senyawa apa saja yang terkandung di dalam ekstrak etanol dan metanol spirulina.

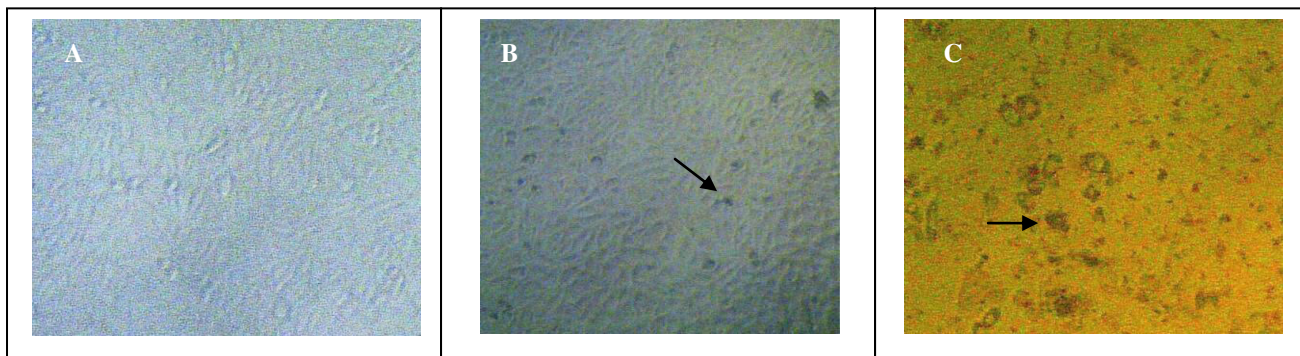
### 3. HASIL DAN PEMBAHASAN

#### 3.1. Uji Sitotoksik

Ekstraksi *Spirulina platensis* dilakukan dengan metode maserasi. Metode maserasi merupakan metode paling sederhana, murah dan tidak memerlukan suhu tinggi (Chandra Gupta and Rao, 2012). Ekstrak *Spirulina platensis* ditimbang masing-masing 250 gram kemudian direndam dengan 1,9 L etanol dan metanol. Kemudian diperoleh ekstrak kental etanol dan metanol masing-masing 5,9 gram dan 14,96 gram dengan nilai rendemen ekstrak etanol dan ekstrak metanol berturut-turut 2,36 % dan 5,984 %.

Uji sitotoksik merupakan uji untuk mengetahui suatu senyawa toksik pada suatu sumber alami. Uji sitotoksik pada penelitian ini menggunakan metode MTT *assay*. Mekanisme metode MTT ini yaitu adanya reduksi garam tetrazolium yang berwarna kuning oleh enzim suksinate yang ada pada mitokondria sel hidup menjadi kristal formazan yang berwarna ungu dan bersifat tidak larut air (Cancer Chemoprevention Research Center, 2013). Uji sitotoksik dilakukan pada sel T47D dengan kepadatan sel  $10^4$ . Dalam uji sitotoksik parameter yang digunakan yaitu  $IC_{50}$ .  $IC_{50}$  atau *inhibitory concentration 50%* adalah parameter untuk mengetahui konsentrasi penghambatan 50% populasi sel hidup. Konsentrasi yang digunakan pada penelitian ini yaitu sebesar 31,25 ; 62,5; 125; 250 dan 500  $\mu\text{g/mL}$ . Pada penelitian ini menggunakan pelarut DMSO (Dimethylsulfoxide). DMSO merupakan suatu pelarut yang dapat melarutkan semua senyawa polar maupun non polar (Assidqi, 2012). Dalam menambahkan DMSO semua ekstrak harus terlarut, karena jika tidak terlarut akan mempengaruhi pembacaan hasil.

Pada penelitian ini perlakuan sampel diberikan selama 48 jam kemudian ditambah reagen MTT. Setelah penambahan reagen MTT, akan terbentuk kristal formazan. Kemudian ditambah reagen stopper berupa SDS. SDS berfungsi menghentikan dan mendegradasi enzim. Setelah itu diukur absorbansinya menggunakan ELISA *reader*. Prinsip pembacaan ELISA (*Enzyme-linked Immunosorbent Assay*) reader yaitu analisis interaksi antara antigen dan antibodi yang teradsorpsi secara pasif dengan menggunakan konjugat antibodi atau antigen yang dibantu oleh enzim. Enzim ini akan bereaksi dengan substrat dan menghasilkan warna. Warna yang timbul dapat ditentukan secara kualitatif dengan pandangan mata atau kuantitatif dengan pembacaan nilai absorbansi pada ELISA *plate reader* (Burgess, 1995). Semakin banyak kristal formazan yang terbentuk maka sel hidup semakin banyak.



Gambar 2. Kontrol sel setelah perlakuan (A), Sel T47D setelah penambahan ekstrak etanol spirulina konsentrasi 500 µg/mL pada hari ke-3 (B) ,Sel T47D setelah penambahan ekstrak metanol spirulina 500 µg/mL pada hari ke-3 (C)

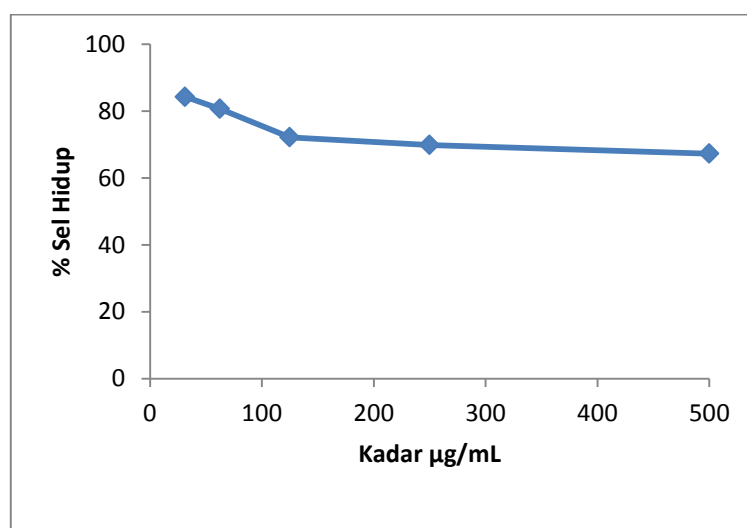
Morfologi pada kontrol sel T47D setelah perlakuan diamati di bawah mikroskop dengan perbesaran 100x yaitu berbentuk pipih, memanjang dan bergerombol (Gambar 2A). Terdapat perbedaan morfologi sel setelah diberi perlakuan ekstrak etanol konsentrasi 500 µg/mL pada hari ke-3 yaitu sel yang mati akan berwarna hitam (Gambar 2B), sedangkan ekstrak metanol setelah perlakuan sampel dengan konsentrasi 500 µg/mL pada hari ke-3 sel yang mati akan berwarna hitam, bentuknya berubah menjadi kecil dan pipih (Gambar 2C). Data absorbansi selanjutnya digunakan untuk menghitung % sel hidup. Hasil pembacaan ELISA *reader* ekstrak etanol dan metanol spirulina kemudian dihitung % sel hidupnya dengan menggunakan data absorbansi. Dari data absorbansi dapat dihitung % sel hidup sel T47D ekstrak etanol (Tabel 1) dan ekstrak metanol *Spirulina platensis* (Tabel 2). Dari hasil rata-rata sel hidup dapat dibuat kurva hubungan kadar vs % sel hidup untuk mengetahui pengaruh kadar konsentrasi terhadap % sel hidup (Gambar 3 dan Gambar 4)

Tabel 1. Perhitungan % sel hidup ekstrak etanol *Spirulina platensis*

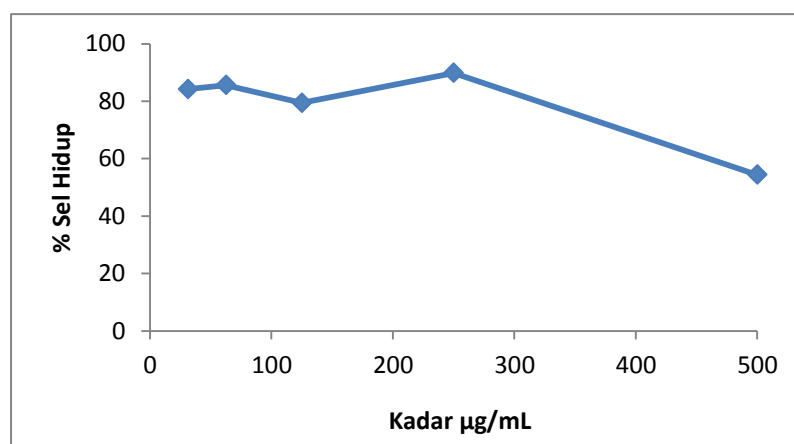
| Kadar<br>µg/mL | % Sel hidup |        |        | Rata-rata % sel<br>hidup | SD    |
|----------------|-------------|--------|--------|--------------------------|-------|
|                | 1           | 2      | 3      |                          |       |
| 31,25          | 86,511      | 83,395 | 82,789 | 84,232                   | 1,997 |
| 62,5           | 81,145      | 80,799 | 80,020 | 80,655                   | 0,576 |
| 125            | 72,318      | 72,405 | 71,626 | 72,116                   | 0,427 |
| 250            | 71,799      | 69,982 | 67,732 | 69,837                   | 2,038 |
| 500            | 74,164      | 66,953 | 60,722 | 67,280                   | 6,727 |

Tabel 2. Perhitungan % sel hidup ekstrak metanol *Spirulina platensis*

| Kadar<br>$\mu\text{g/mL}$ | % Sel hidup |        |        | Rata-rata % sel<br>hidup | SD    |
|---------------------------|-------------|--------|--------|--------------------------|-------|
|                           | 1           | 2      | 3      |                          |       |
| 31,25                     | 82,357      | 83,741 | 86,424 | 84,174                   | 2,068 |
| 62,5                      | 88,415      | 86,770 | 81,578 | 85,588                   | 3,568 |
| 125                       | 80,713      | 79,068 | 78,462 | 79,414                   | 1,164 |
| 250                       | 87,290      | 91,011 | 91,184 | 89,828                   | 2,200 |
| 500                       | 52,933      | 64,010 | 46,270 | 54,405                   | 8,961 |



Gambar 3. Pengaruh perlakuan ekstrak etanol *Spirulina platensis* terhadap sel T47D



Gambar 4. Pengaruh perlakuan ekstrak metanol *Spirulina platensis* terhadap sel T47D

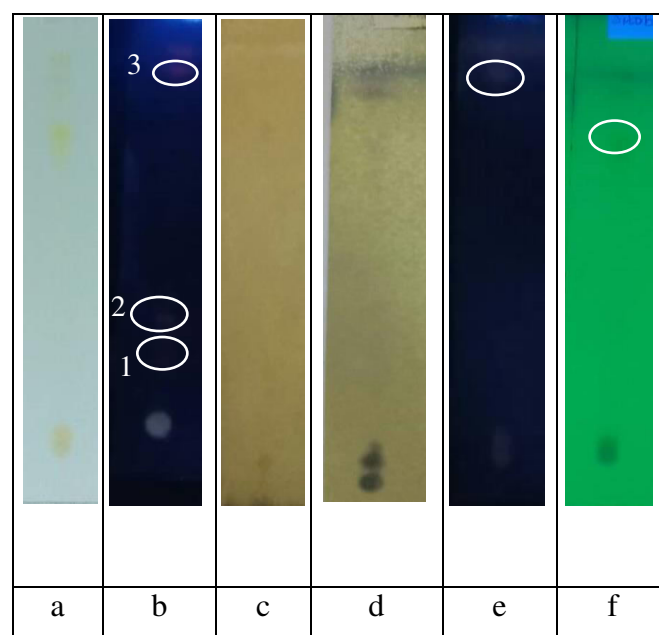
Dari hasil diatas (Tabel 1) kadar ekstrak etanol dari konsentrasi tinggi ke rendah menunjukkan adanya perubahan jumlah % sel hidup. Pada kadar 500  $\mu\text{g/mL}$  dihasilkan rata-rata % sel hidup

sebesar 67,280, kadar 250 µg/mL rata-rata % sel hidupnya sebesar 69,837, kadar 125 µg/mL rata-rata % sel hidup sebesar 72,116, kadar 62,5 µg/mL rata-rata % sel hidupnya sebesar 80,655 dan kadar 31,25 µg/mL rata-rata % sel hidupnya sebesar 84,232. Sedangkan hasil % rata-rata sel hidup ekstrak metanol dengan konsentrasi 31,25 ; 62,5; 125; 250 dan 500 µg/mL berturut-turut yaitu 84,174 ; 85,588 ; 79,414 ; 89,828 ; dan 54,405. Semakin kecil konsentrasi ekstrak maka semakin banyak sel yang hidup. Pengaruh ekstrak etanol dan metanol terhadap % sel hidup digambarkan pada grafik hubungan kadar vs % sel hidup (Gambar 3 dan Gambar 4). Dari grafik gambar 3 dapat dilihat pada ekstrak etanol konsentrasi 125 - 500 µg/mL tidak banyak menunjukkan perubahan, yang berarti pada tingkatan konsentrasi tersebut tidak banyak berpengaruh terhadap sel hidup, sedangkan pada grafik gambar 4 pada ekstrak metanol konsentrasi 250 µg/mL terlihat kenaikan % sel hidup diantara kadar konsentrasi yang lain. Dari data hasil perhitungan menunjukkan rata-rata sel hidup masih tinggi yaitu diatas 50%. Pada konsentrasi tertinggi yaitu 500 µg/mL pada ekstrak etanol hanya dapat menghambat 33 % sel T47D sedangkan pada ekstrak metanol pada konsentrasi tertinggi 500 µg/mL hanya dapat menghambat 46 % sel T47D. Hal itu menunjukkan bahwa ekstrak etanol dan metanol spirulina memiliki aktivitas sitotoksik yang lemah terhadap sel T47D.

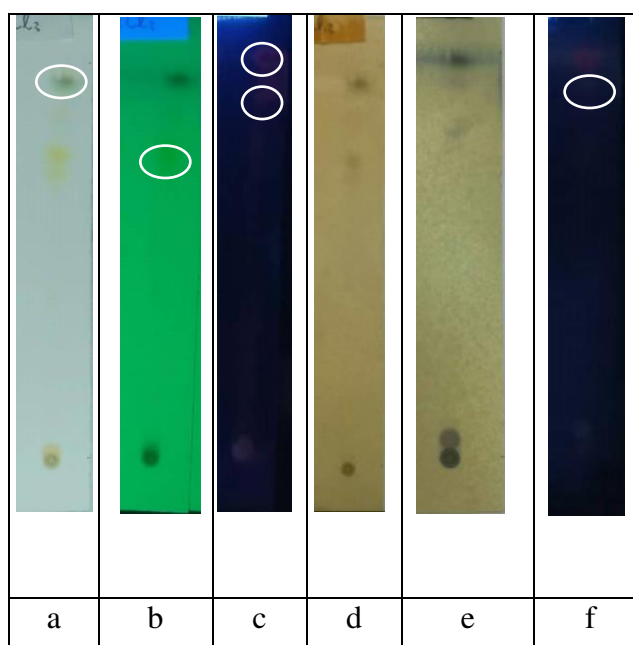
Pada penelitian lain menyebutkan pada filtrat *Spirulina platensis* terhadap sel kanker kolon Caco-2 pada konsentrasi 5% (v/v) dapat menghambat pertumbuhan sel Caco-2 dilihat dari luas permukaan sel dan jumlah koloni dilihat pada 24 jam dan 72 jam. Perlakuan filtrat *Spirulina platensis* mempengaruhi luas permukaan sel Caco-2 sehingga terjadi penurunan sebesar 50 % (Smieszek *et al.*, 2017). Pada penelitian jenis alga yang lain yaitu *Gracilaria foliifera* dan *Cladophoropsis sp.* menjadi ganggang paling aktif dalam hal pengujian efek sitotoksik terhadap jenis-jenis sel kanker payudara seperti MDA - MB - 231, sel MCF-7, dan T-47D. Hasil nilai IC<sub>50</sub> ekstrak *G. foliifera* terhadap sel MDA - MB - 231, sel MCF-7, dan T-47D berturut-turut adalah 74.89 ± 21.71; 207.81 ± 12.07; dan 203.25 ± 30.98 µg / ml sedangkan nilai IC<sub>50</sub> ekstrak *Cladophoropsis sp.* terhadap sel kanker MDA - MB - 231, sel MCF-7, dan T-47D berturut-turut adalah 66.48 ± 4.96; 150.86 ± 51.56 dan > 400 µg / ml (Moein *et al.*, 2015). Penelitian lain juga menunjukkan pada fraksi protein dari *Spirulina platensis* yang mempunyai efek penghambatan proliferasi yang tinggi terhadap MCF-7, HepG-2 dan SGC-7901 dengan nilai IC<sub>50</sub> < 31,25; 36,42; dan 48,25 µg/mL (Wang and Zhang, 2017). Dari hasil penelitian ini dibandingkan dengan hasil-hasil penelitian sebelumnya bahwa fraksi protein dan filtrat sebenarnya *Spirulina platensis* memiliki efek sitotoksik yang poten terhadap sel kanker, namun pada penelitian ini ekstrak *Spirulina platensis* tidak aktif dalam menghambat pertumbuhan sel kanker T47D. Hal ini bisa dikarenakan metabolit sekunder yang tersari dalam ekstrak metanol dan etanol tidak memiliki aktivitas sitotoksik.

### 3.2. Uji kandungan senyawa

*Spirulina platensis* merupakan ganggang biru-hijau (cyanobacteria) yang mengandung vitamin B yang beragam dan kandungan yang tinggi protein, serta sejumlah besar asam lemak, polisakarida, dan mineral. Selain itu *Spirulina platensis* juga mengandung antioksidan alami dan fitoplasia seperti karotenoid, xanthophyll, dan klorofil (Herrera Bravo de Laguna *et al.*, 2015). Pada penelitian ini dilakukan uji kandungan senyawa menggunakan uji Kromatografi Lapis Tipis (KLT) bertujuan untuk kandungan senyawa apa saja yang terkandung di dalamnya. Uji kandungan senyawa dengan KLT dengan menggunakan fase gerak etilasetat : n-heksan dengan perbandingan (7:3). Pada profil KLT uji kandungan senyawa etanol spirulina menggunakan reagen semprot Sitroborat,  $\text{FeCl}_3$ , Vanillin asam sulfat dan Libermann Burchard. Penambahan reagen semprot sitroborat digunakan untuk mendeteksi kandungan senyawa flavonoid ditandai dengan bercak totolan berwarna kuning kehijauan pada pengamatan sinar UV 366 nm (Wagner, 1996). Reagen semprot  $\text{FeCl}_3$  digunakan untuk mendeteksi kandungan senyawa fenolik yang ditandai dengan bercak totolan berwarna abu-abu hingga biru yang diamati pada sinar tampak (Priyani, 2010). Vanilin asam sulfat digunakan untuk mendeteksi adanya kandungan senyawa terpenoid yang ditandai dengan bercak totolan menjadi warna merah, biru atau coklat diamati pada sinar tampak (visual). Sedangkan Libermann burchard digunakan untuk mendeteksi kandungan senyawa triterpenoid (steroid) yang ditandai dengan bercak totolan berwarna kuning jingga yang diamati pada UV 366 nm (Priyani, 2010).



Gambar 5. Profil KLT ekstrak etanol spirulina fase gerak etilasetat : n-heksan (7:3). Tampak visual sebelum disemprot(a), sesudah penambahan reagen semprot sitoborat pada 366 nm(b),  $\text{FeCl}_3$  sinar tampak(c), Vanilin-asam sulfat sinar tampak(d), Libermann burchard pada 366 nm(e), dan sesudah elusi dan dilihat pada UV 254 nm(f).



Gambar 6. Profil KLT ekstrak metanol spirulina fase gerak etilasetat : n-heksan (7:3) Tampak visual sebelum disempot(a), sesudah elusi dilihat pada 254 nm(b), sesudah penambahan reagen semprot sitoborat pada 366 nm(c),  $\text{FeCl}_3$  sinar tampak(d), Vanilin-asam sulfat sinar tampak(e), dan Libermann burchard pada 366 nm(f).

Tabel 3. Deteksi golongan senyawa ekstrak etanol dan metanol dengan pereaksi semprot

| Rf     |         | Deteksi      |        |            |                 |                     |                    | Interpretasi senyawa |
|--------|---------|--------------|--------|------------|-----------------|---------------------|--------------------|----------------------|
| Etanol | Metanol | Sinar tampak | UV 254 | Sitroborat | $\text{FeCl}_3$ | Vanilin-asam sulfat | Libermann burchard |                      |
| 0,762  | 0,762   | -            | Kuning | -          | -               | -                   | -                  | $\beta$ - karoten    |
| 0,287  | 0,837   | -            | -      | Kuning     | -               | -                   | -                  | Flavonoid            |
| 0,412  | 0,937   | -            | -      | kehijauan  | -               | -                   | -                  |                      |
| 0,9    |         |              |        |            |                 |                     |                    |                      |
| -      | 0,93    | Kuning       | -      | -          | -               | -                   | -                  | Klorofil $\alpha$    |
| 0,95   | 0,9     | -            | -      | -          | -               | -                   | Kuning             | Steroid              |

Hasil uji KLT ekstrak etanol pada pereaksi sitroborat ditandai dengan bercak kuning kehijauan pada sinar UV 366 nm yang menunjukkan adanya kandungan senyawa flavonoid (Gambar 5) dengan nilai  $R_{f1} = 0,287$ ;  $R_{f2} = 0,412$ ; dan  $R_{f3} = 0,9$  (Tabel 3), sedangkan pada ekstrak metanol nilai  $R_{f1} = 0,837$  dan  $R_{f2} = 0,937$ . Profil KLT pada pereaksi Libermann burchard ditandai adanya bercak tunggal berwarna kuning pada sinar UV 366 nm yang menunjukkan adanya steroid dengan nilai  $R_f = 0,95$  untuk ekstrak etanol dan nilai  $R_f = 0,9$  untuk ekstrak metanol (Tabel 3). Pada hasil elusi kedua ekstrak (Gambar 5 dan 6) dilihat pada sinar UV 254 nm adanya bercak kuning menunjukkan senyawa  $\beta$ - karoten dengan nilai  $R_f = 0,762$  (Tabel 3). Pada penelitian sebelumnya menyebutkan bahwa uji KLT pada ekstrak *Spirulina platensis* yang menggunakan fase gerak n-heksan:aseton dengan perbandingan (75:25) menunjukkan bahwa hasil elusi diamati pada sinar UV 254 nm memperlihatkan bercak warna kuning dengan nilai  $R_f = 0,77$  yang menunjukkan adanya senyawa  $\beta$ - karoten (Herrera Bravo de Laguna *et al.*, 2015), sehingga dapat disimpulkan bahwa

ekstrak etanol dan metanol mengandung senyawa  $\beta$ -karoten. Pada hasil KLT ekstrak metanol terdapat bercak kehijauan dilihat pada sinar tampak (Gambar 6a) dengan nilai  $R_f = 0,93$  yang menunjukkan adanya senyawa klorofil  $\alpha$ . Pada penelitian sebelumnya menyebutkan bahwa uji KLT pada ekstrak metanol *Spirulina platensis* dengan fase gerak n-heksan: dietil eter: aseton dengan perbandingan 3:2:1 menunjukkan bercak hijau dengan nilai  $R_f = 0,84$  (Yudiati *et al.*, 2011). Penelitian Yudiati *et al* (2011) merujuk pada penelitian Britton *et al* (1995) menyebutkan hasil elusi ekstrak metanol *Spirulina platensis* yang dilihat pada sinar tampak menunjukkan bercak hijau dengan nilai  $R_f$  0,8-1,0, sehingga dapat disimpulkan bahwa ekstrak metanol spirulina mengandung senyawa klorofil  $\alpha$ .

Mekanisme reaksi reagen sitroborat dengan flavonoid yaitu flavonoid memiliki gugus hidroksil berkedudukan orto akan memberikan warna kuning intensif jika bereaksi dengan asam borat dan larutan natrium asetat. Sampai saat ini mekanisme reaksi yang terjadi antara flavonoid dengan pereaksi sitroborat belum dapat diketahui secara pasti. Warna fluoresensi yang terbentuk adalah fluoresensi kuning kehijauan dengan sinar UV 366 nm (Harborne dan Mabry, 1975).

Sedangkan mekanisme reaksi reagen semprot liebermann-burchard dengan terpenoid yaitu adanya reaksi kondensasi atau pelepasan  $H_2O$  dan penggabungan dengan karbokation. Diawali dengan asetilasi gugus hidroksil menggunakan asam asetat anhidrida kemudian terbentuk ikatan rangkap. Setelah itu terjadi pelepasan gugus hidrogen bersama elektronnya sehingga ikatan rangkapnya akan berpindah. Senyawa ini kemudian mengalami resonansi kemudian bertindak sebagai karbotion. Serangan karbonation ini menyebabkan lepasnya gugus hidrogen dan senyawa mengalami perpanjangan konjugasi yang mengakibatkan munculnya warna kuning-jingga (Siadi, 2012). Untuk mekanisme reaksi fenolik dan  $FeCl_3$  terjadi reaksi substitusi antara sampel dengan reagen  $FeCl_3$  dimana ion  $H^+$  dalam fenol digantikan dengan  $Fe^{3+}$  yang berasal dari reagen  $FeCl_3$ . Lalu fenol akan melepas ion  $H^+$  yang berikatan dengan  $Cl^-$  dan membentuk  $HCl$ , sedangkan fenol yang kehilangan ion  $H^+$  akan diganti dengan  $Fe^{3+}$  sehingga membentuk  $FeO$  pada cincin benzene.  $FeCl_3$  akan mengubah trukturanya menjadi  $FeCl_2$  dan akan bereaksi substitusi dengan  $H^+$  yang akan dilepaskan oleh gugus alkohol sehingga  $FeCl_2$  dapat masuk kedalam gugus benzena dan membentuk warna kompleks (Alrahab, 2007).

#### 4. PENUTUP

Uji sitotoksik dilakukan untuk mengetahui senyawa toksik pada *Spirulina platensis*. Pada penelitian ini dapat disimpulkan bahwa ekstrak etanol dan metanol spirulina memiliki aktivitas sitotoksik yang lemah terhadap sel T47D ditandai dengan hasil rata-rata % sel hidup lebih dari 50% sehingga tidak bisa dihitung nilai  $IC_{50}$ . Uji kandungan senyawa dengan KLT menunjukkan adanya kandungan  $\beta$ -karoten, klorofil  $\alpha$ , flavonid dan triterpenoid (steroid). Penelitian tentang uji sitotoksik *Spirulina*

*platensis* memang belum terlalu banyak, sehingga untuk penelitian selanjutnya perlu dikembangkan lagi cara mendapatkan ekstrak yang poten dengan hasil yang lebih baik lagi.

## PERSANTUNAN

Terima kasih kepada PT. Neoalgae, bapak dan ibu laboran, teman-teman penelitian dan pihak-pihak yang telah membantu penelitian ini berjalan dengan lancar.

## DAFTAR PUSTAKA

- Alrahab, Fendi, 2007, Kimia Organik Dasar Edisi 3 jilid 1, Depok, Universitas Indonesia
- Assidqi K. and Wahyu Tjahjaningsih dan Setyawati Sigit, 2012, Potensi Ekstrak Daun Patikan Kebo (*Euphorbia hirta*) sebagai antibakteri terhadap *Aeromonas hydrophila* Secara In Vitro, *Journal of Marine and Coastal Science*, 1(2), 113 – 124, 2012
- Brient L., Lengronne M., Bertrand E., Rolland D., Sipel A., Steinmann D., Baudin I., Legeas M., Le Rouzic B. and Bormans M., 2008, A phycocyanin probe as a tool for monitoring cyanobacteria in freshwater bodies., *Journal of environmental monitoring : JEM*, 10 (2), 248–55. Terdapat di: <http://www.ncbi.nlm.nih.gov/pubmed/18246219> [Diakses pada January 29, 2019].
- Cancer Chemoprevention Research Center, 2013, Cancer Chemoprevention Research Center, , 8. Terdapat di: <http://ccrc.farmasi.ugm.ac.id/wp-content/uploads/03.010.02-uji-sitotoksik-MTT.pdf> [Diakses pada January 15, 2019].
- Chandra Gupta P. and Rao C. V, 2012, *Pharmacognostical studies of Cleome viscosa* Linn, Terdapat di: [http://nopr.niscair.res.in/bitstream/123456789/15568/1/IJNPR\\_3\(4\)\\_527-534.pdf](http://nopr.niscair.res.in/bitstream/123456789/15568/1/IJNPR_3(4)_527-534.pdf) [Diakses pada January 14, 2019].
- Christwardana M. and Hadiyanto N., 2013, *Spirulina platensis : Potensinya Sebagai Bahan Pangan Fungsional*, Semarang, Indonesia. Terdapat di: [www.journal.ift.or.id](http://www.journal.ift.or.id) [Diakses pada January 29, 2019].
- Glazer A.N., 1989, Light guides. Directional energy transfer in a photosynthetic antenna., *The Journal of biological chemistry*, 264 (1), 1–4. Terdapat di: <http://www.ncbi.nlm.nih.gov/pubmed/2491842> [Diakses pada January 29, 2019].
- Herrera Bravo de Laguna I., Toledo Marante F.J., Luna-Freire K.R. and Mioso R., 2015, Extraction of nutraceuticals from *Spirulina* (blue-green alga): A bioorganic chemistry practice using thin-layer chromatography, *Biochemistry and Molecular Biology Education*, 43 (5), 366–369.
- Li B., Chu X.M., Gao M.H. and Zhang X.C., 2009, Study on the molecular mechanism of C-phycocyanin from *Spirulina platensis* induced apoptosis in HeLa cells, *Chinese Pharmacological Bulletin*, 25 (8), 1045–1050.
- Moein M., Nazemosadat Z. and Erfani N., 2015, Cytotoxic activity of ten algae from the Persian Gulf and Oman Sea on human breast cancer cell lines; MDA-MB-231, MCF-7, and T-47D, *Pharmacognosy Research*, 7 (2), 133. Terdapat di: <http://www.phcogres.com/text.asp?2015/7/2/133/150539>.
- Priyani T., 2010, *Uji Mutagenitas Fraksi Ekstrak Kloroform Daun Ambre (Geranium radula Salmonella typhimurium) Serta Profil Kandungan Kimia Fraksi Teraktif*, Terdapat di: <https://eprints.uns.ac.id/10025/1/112033003201009261.pdf> [Diakses pada January 14, 2019].



- Pyne S.K., Bhattacharjee P. and Srivastav P.P., 2017, Microalgae ( *Spirulina Platensis* ) and Its Bioactive Molecules : Review, *Indian Journal of Nutrition*, 4 (2), 1–6.
- Qi F., Zhao L., Zhou A., Zhang B., Li A., Wang Z. and Han J., 2015, The advantages of using traditional Chinese medicine as an adjunctive therapy in the whole course of cancer treatment instead of only terminal stage of cancer, *BioScience Trends*, 9 (1), 16–34. Terdapat di: [www.biosciencetrends.com](http://www.biosciencetrends.com) [Diakses pada January 14, 2019].
- RI K.K., 2017, *Profil Kesehatan Indonesia Tahun 2017*, Terdapat di: <http://www.depkes.go.id/resources/download/pusdatin/profil-kesehatan-indonesia/Profil-Kesehatan-Indonesia-tahun-2017.pdf> [Diakses pada January 14, 2019].
- Siadi K., 2012, Ekstrak Bungkil Biji Jarak Pagar *Jatropha Curcas* Sebagai Biopestisida Yang Efektif Dengan Penambahan Larutan NaCl, *Jurnal MIPA*, 35 (1) Terdapat di: <http://journal.unnes.ac.id/nju/index.php/JM>.
- Smieszek A., Giezek E., Chrapiec M., Murat M., Mucha A., Michalak I. and Marycz K., 2017, The influence of *Spirulina platensis* filtrates on caco-2 proliferative activity and expression of apoptosis-related microRNAs and mRNA, *Marine Drugs*, 15 (3)
- Wang Z. and Zhang X., 2017, Isolation and identification of anti-proliferative peptides from *Spirulina platensis* using three-step hydrolysis, *Journal of the Science of Food and Agriculture*, 97 (3), 918–922.
- Yudiati E., Sedjati S., Surnarsih and Agustian R., 2011, Aktivitas Antioksidan dan Toksisitas Ekstrak Metanol dan Pigmen Kasar *Spirulina* sp ., *Indonesian Journal of Marine Sciences*, 16 (4), 187–192.